



TITLE:

# The Effect of Micro and Nano Mechanical Environment on Pluripotent Stem Cells( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Yu, Leqian

---

CITATION:

Yu, Leqian. The Effect of Micro and Nano Mechanical Environment on Pluripotent Stem Cells. 京都大学, 2017, 博士(工学)

ISSUE DATE:

2017-09-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20701>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要旨は2017-10-01に公開

京都大学	博士（工学）	氏名	于 楽謙（Yu Leqian）
論文題目	The Effect of Micro and Nano Mechanical Environment on Pluripotent Stem Cells （多機能性幹細胞への機械的マイクロ・ナノ環境の効果）		
（論文内容の要旨）			
<p>本論文は、培養基材と細胞間の弱い接着環境において、同一のコロニーから単離したヒト iPS 細胞を培養すると、2 種類の立体形状の異なるコロニーを形成することを発見したに基づき、この 2 種類のコロニーの形状が、細胞と培養基材の何に起因するのかを、細胞内における機能発現のメカニズムに着目して明らかにしている。また、得られた 2 種類の細胞の分化特性の検証を行っている。さらに、分化した細胞の特性を利用して細胞を分離する方法や細胞の機能を成熟化する方法を考案しその有効性を示すことで、細胞培養や細胞操作において細胞への力学的なマイクロ・ナノ環境を制御・利用することの重要性を明らかにしたものである。</p> <p>本論文は 7 章から構成されている。</p> <p>第 1 章は緒論であり、研究の背景および目的と論文全体の構成について述べている。研究の位置付けとしては、マイクロ・ナノ加工技術を用いて体細胞から細胞の初期化、培養、分化及び機能の成熟化に関する研究の現状と課題についてまとめている。そして、課題の解決に向けて本論文の第 2 章から第 6 章で述べられている具体的な研究課題について概説し、それら相互の関係について述べている。</p> <p>第 2 章では、単一ヒト iPS 細胞をコロニーから分離し培養する方法を提案している。初期化により得られたヒト iPS 細胞のコロニーは、性質の異なる細胞が混在している。そこで、基材としてゼラチンナノファイバーを用い、単一のヒト iPS 細胞をコロニーから分離して培養することで単一細胞由来のコロニーを作成した。その結果、得られたコロニーが、3 次元形状の異なる 2 つのタイプに大別できることを見いだした。コロニーの 3 次元形状の違いは、培養時に通常用いられる培地上では発現せず、細胞との接着性が弱いゼラチンナノファイバーを基材として用いた場合にのみ発現し、その発現が継代されることも見いだした。さらに、2 つのタイプのコロニーの細胞の多能性と分化能が異なることを明らかにした。</p> <p>第 3 章では、第 2 章で見いだした 2 種類の細胞コロニーの 3 次元形状が異なるメカニズムを解明するため、遺伝子解析をもとに考察し、2 種類の細胞コロニーの形状が、培養基材との接着に関与する蛋白質及び細胞の多能性が関係し、SRF (Serum Response Factor) 転写因子を経由して発現するという細胞内シグナル伝達回路を明らかにした。また、これら 2 種類の細胞が Naïve like な細胞と Prime like な細胞であることを示した。</p> <p>第 4 章では、単離した 2 種類のヒト iPS 細胞クローンの心筋細胞への分化能の評価を行い、2 種類の細胞の内、Naïve like な細胞が Prime like な細胞に対して、より高効率・</p>			

京都大学	博士（工学）	氏名	于 楽謙 (Yu Leqian)
<p>高成熟・高機能な心筋細胞を得ることが可能であることを明らかにしている。</p> <p>第 5 章では、細胞の分化誘導後の細胞群中に未分化のヒト iPS 細胞が存在すると未分化の細胞が腫瘍になる恐れがあり、分化した細胞をドラックスクリーニング等へ応用する場合において課題となる。そこで、未分化の細胞と分化した細胞をマイクロ流路内で分離するデバイスを新規に構築している。考案したこのマイクロ流体デバイスを用いて、ヒト iPS 細胞から分化した心筋細胞中の未分化のヒト iPS 細胞を除くことで、考案したデバイスの有効性を示している。</p> <p>第 6 章では、1 方向に配向し配置したゼラチンナノファイバーを基材として用いて、心筋細胞を 1 方向に配向し組織構造を構築する方法を考案している。組織化した心筋細胞組織に電気刺激を加え、その細胞の刺激応答性から、心筋細胞を配向させた場合と配向させない場合における心筋組織の収縮機能の成熟化について考察している。その結果から、細胞と基材の接着を利用して細胞を配向することが、細胞の収縮機能の成熟化に重要であることを示している。</p> <p>第 7 章は結論であり、本論文における研究の結果とその意義について論じるとともに、今後に向けた展望について述べている。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、弱い接着環境においてコロニーから単離したヒト iPS 細胞を培養すると、2 種類の形状の異なるコロニーを形成することを発見したことに基づき、この 2 種類のコロニーの形状の違いが何に起因するのかを、細胞内における機能発現のメカニズムに着目して明らかにすることを目的としている。また、得られた細胞の分化特性の検証を行うとともに、分化した細胞の特性を利用して細胞を分離する、マイクロ流体デバイスや細胞の成熟化方法を考案するとともにその有効性を検討している。

細胞の機能発現が細胞培養環境の機械的特性の影響を強く受けることに着目し、ヒト iPS 細胞をゼラチンナノファイバーを基材として用い、コロニーから単離し培養した結果、1 種類と思われたコロニーの形状が 2 種類の 3 次元形状の異なるヒト iPS 細胞コロニーに大別できることを見いだした。このコロニーの形状は培養時に通常用いられる基材上では発現せず、ゼラチンナノファイバー上においてのみ発現し、その発現が継代された。この 2 種類の細胞コロニーの 3 次元形状が異なるメカニズムを解明するため、遺伝子解析をもとに考察し、2 種類の細胞の形状が、培養基材との接着に関与する蛋白質及び細胞の多能性が関係し、SRF(Serum Response Factor)転写因子を経由して発現するという細胞内シグナル伝達回路を明らかにした。また、分離した 2 種類のヒト iPS 細胞の臓器細胞への分化特性の違いを明らかにした。

さらに、心筋に分化誘導した細胞を、マイクロ流体デバイスを用いて分離する方法を構築するとともに、心筋細胞をゼラチンナノファイバー上で配向させながら組織構築を行い、電気刺激による応答性から、配向させた場合と配向させない場合における細胞の収縮機能の成熟化への影響に関して考察している。

本論文はこれら 2 種類の細胞の発見からその機能評価、さらには、マイクロな力学環境を利用した細胞分離と機能発現の成熟化までを研究した成果をまとめたものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。

また、平成 29 年 8 月 30 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行い、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規定第 14 条第 2 項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める

要旨公開可能日：平成 29 年 10 月 1 日以降